

Emetische Toxinproduktion von *Bacillus cereus* in ausgewählten Lebensmitteln: Mechanismen und Präventionsmöglichkeiten

Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle:	Technische Universität München Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung Abt. Mikrobiologie, Freising-Weihenstephan Prof. Dr. S. Scherer/Prof. Dr. M. Ehling-Schulz
Industriegruppe:	Milchindustrie-Verband e.V. (MIV), Berlin
	Projektkoordinator: Dipl. Kfm. R. Hofmeister Käserei Champignon GmbH & Co. KG, Lauben
Laufzeit:	2007 – 2009
Zuwendungssumme:	€ 365.000,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

Ausgangssituation:

Die Bedeutung von *Bacillus cereus* als Lebensmittelkontaminante nimmt massiv zu. In den Jahren 1998-2000 war *B. cereus* bereits an bis zu 60 % der Ausbrüche von Lebensmittelvergiftungen in Gemeinschaftsverpflegungseinrichtungen beteiligt und ist der am häufigsten isolierte Keim in Rückstellproben aus Großküchen. Eine *B. cereus*-Kontamination mit gleichzeitiger Toxinproduktion kann bei Betrieben zu erheblichen finanziellen Einbußen führen. Eine wissenschaftlich belastbare Risikoabschätzung hinsichtlich einer Toxinproduktion im Lebensmittelproduktionsprozess oder bei verkaufsfertigen Endprodukten ist derzeit nicht möglich. Besonders kleine und mittelständische Unternehmen sind deshalb durch Zwischenfälle existenziell gefährdet.

Ziel des Forschungsvorhabens war es daher, das Gefährdungspotential, das von emetischen *B. cereus*-Stämmen für ausgesuchte Lebensmittel ausgeht, zu analysieren, um eine Risikoabschätzung für einzelne Lebensmittel(-gruppen) hinsichtlich einer Toxinproduktion zu ermöglichen und um ein Klassifizierungssystem zu erstellen. Des Weiteren sollten Lösungsansätze für die Unterbindung der Toxinproduktion in besonders gefährdeten Lebensmitteln ausgearbeitet werden, um dadurch die Sicherheit für den Verbraucher zu erhöhen und wirtschaftlichen

Schaden für die Unternehmen zu vermeiden. Ferner sollten Belastungsuntersuchungen und Kontaminationsstudien von Lebensmitteln durchgeführt werden, um wichtige Daten zur Verbesserung von Qualitätssicherungskonzepten zu liefern.

Forschungsergebnisse:

Zur Verbesserung der Datenlage wurden im Rahmen des Projekts 80 Produkte, Produktvorstufen und Ingredienzen sowie Schadens- und Verdachtsfälle untersucht. Emetische Stämme konnten in 8 % der Lebensmittel und in 14 % der Produktvorstufen oder Ingredienzen nachgewiesen werden. 3 % der handelsbezogenen Lebensmittel und 10 % der Produktvorstufen und Ingredienzen waren mit Cereulid-Toxin belastet. Vor allem Fruchtzubereitungen, pasteurisiertes Vollei, Reis und Milch- bzw. Proteinpulver wurden als Eintragsursachen für emetische *B. cereus* in Lebensmittel identifiziert.

Mit Hilfe eines biolumineszenten *B. cereus*-Indikatorstammes wurde erstmals eine Identifizierung von potentiell gefährdeten Lebensmittelgruppen durchgeführt. Dies führte zur Kategorisierung von Produkten in drei Sensitivitätsklassen bezüglich des Potentials zur Förderung der Toxinbildung emetischer *B. cereus*: hoch-

sensitive, sensitive und insensitive Lebensmittel.

Es wurde gezeigt, dass die Lumineszenzintensität des Indikatorstammes mit der Menge gebildeten Toxins korreliert. Somit stellt der im Rahmen des Projektes entwickelte Indikatorstamm ein wertvolles Hilfsmittel dar, um zu einer schnellen Einschätzung des Toxinbildungspotentials einer Produktengredienz oder eines Lebensmittels zu gelangen. Vorteil dieses Indikatorstamm-basierten Einschätzungsverfahrens ist, dass es keiner zeitaufwendigen Extraktionsmethode für das Cereulidtoxin bedarf. Auf diese Weise können Produktzusätze identifiziert werden, die die Toxinbildung von *B. cereus* fördern, so dass diese Zusätze aus dem Lebensmittelproduktionsprozess ausgeschlossen werden könnten, um die Produktsicherheit zu erhöhen.

Wirtschaftliche Bedeutung:

Über den durch *Bacillus cereus* bundesweit entstehenden Schaden existieren keine Zahlen; er dürfte sich aber im ein- bis zweistelligen Millionenbereich pro Jahr bewegen. Die Ergebnisse tragen präventiv dazu bei, die Toxinproduktion von *B. cereus* zu hemmen, ohne die Produktionsbedingungen zu stark zu beeinflussen.

Im Rahmen des Forschungsvorhabens konnte erstmals eine mögliche Präventivmaßnahme zur Hemmung der Toxinbildung ausgelotet werden. In Labormedien sowie in zwei Modelllebensmitteln konnte die Reduktion oder Totalhemmung der Toxinbildung durch langkettige Polyphosphate erzielt werden. Da es sich um Lebensmittelzusatzstoffe handelt, die weitläufig primär als Emulgatoren, Stabilisatoren und zur Verbesserung der Streufähigkeit pulverförmiger Lebensmittel eingesetzt werden, ist das Anwendungspotential für eine breite Produktpalette gegeben.

Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2010.
2. Ehling-Schulz M. und Messelhäusser, U.: One pathogen but two different types of food borne outbreaks; *Bacillus cereus* in catering facilities in Germany. In: Case studies in food safety and quality management: Lessons from real-life situations (Hoorfar, J., ed.). Woodhead Publ., Cambridge, UK, 63-70 (2012).
3. Frenzel, E. und Ehling-Schulz, M.: Evaluierung der Hemmwirkung von langkettigen Polyphosphaten auf die Cereulid-Toxinproduktion im Lebensmittel. Jahresbericht milchwiss. Forsch. ZIEL, 72-73 (2011).
4. Dommel M., Lücking, G., Scherer, S. und Ehling-Schulz, M.: Transcriptional kinetic analyses of cereulide synthetase genes with respect to growth, sporulation and emetic toxin production in *Bacillus cereus*. Food Microbiol., 28, 284-290 (2011).
5. Frenzel E., Letzel, T., Scherer, S. und M. Ehling-Schulz.: Inhibition of cereulide toxin synthesis by emetic *Bacillus cereus* via long-chain poly-phosphates. Appl. Environ. Microbiol. 77, 1475-1482. (2011).
6. Ehling-Schulz, M., Knutsson, R. und Scherer, S.: *Bacillus cereus*. In: Genomes of Food- and Water-Borne Pathogens (Kathariou S., Fratamico, P. and Liu, Y., eds.). ASM Press. Washington D.C., USA, 147-164 (2011).
7. Ehling-Schulz, M., Messelhäusser, U. und Granum, P. E.: *Bacillus cereus* in milk and dairy production. In: Rapid Detection, Characterization and Enumeration of Food-Borne Pathogens (Hoorfar, J. ed.). ASM Press. Washington D.C., USA. 275-289 (2011).
8. Frenzel, E. und Dommel, M. K.: Identifizierung des Hauptpromotors des Cereulidsynthetase-Operon s und Echtzeit-Beobachtung der Cereulidtoxin-Biosynthese von emetischen *Bacillus cereus* in Lebensmitteln. Jahresbericht milchwiss. Forsch. ZIEL, 73-75 (2010).
9. Dommel, M., Frenzel, E., Strasser, B., Blöching, C., Scherer, S. und Ehling-Schulz, M.: Identification of the main promoter directing cereulide biosynthesis in emetic *Bacillus cereus* and its application for real-time monitoring of ces gene expression in foods. Appl. Environ. Microbiol., 76, 1232-1240 (2010).
10. Scherer, S.: *Bacillus cereus*: Wege zur Prävention der emetischen Toxinbildung in Lebensmitteln. Tagungsband 66. FEI-Jahrestagung 2008, 61-72 (2009).
11. Lücking, G., Dommel, M., Scherer, S., Fouet, A. und Ehling-Schulz, M.: Cereulide synthesis in emetic *Bacillus cereus* is controlled by the transition state regulator AbrB, but not by the virulence regulator PlcR. Microbiol. 155, 922-931 (2009).

12. Müller-Hellwig S., Frenzel, E. und Blöchinger, C.: Emetische Toxinproduktion von *Bacillus cereus* in ausgewählten Lebensmitteln. Jahresbericht milchwiss. Forsch. ZIEL, 70 (2008).
13. Frenzel E., Bauer, T. und Blöchinger, C.: Monitoring und Detektion der Toxinproduktion von emetischen *Bacillus cereus* in Lebensmitteln. Jahresbericht milchwiss. Forsch. ZIEL, 60-61 (2009).

Weiteres Informationsmaterial:

Technische Universität München
Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittel-
forschung
Abt. Mikrobiologie
Weihenstephaner Berg 3
85354 Freising-Weihenstephan
Tel.: 08161/71-3516, Fax: 08161/71-4492
E-Mail: siegfried.scherer@wzw.tum.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn
Tel.: 0228/372031, Fax: 0228/376150
E-Mail: fei@fei-bonn.de

... ein Projekt der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)
gefördert durch/via: